

**EFEK EKSTRAK DAUN KELOR (*MORINGA OLEIFERA*, LAM.)  
TERHADAP GAMBARAN HISTOPATOLOGI JANTUNG TIKUS PUTIH  
(*RATTUS NORVEGICUS*) MODEL HIPERKOLESTEROLEMIA**

**SKRIPSI**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**RADEN ISMAIL HAFIDH A**

**G0013193**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET**

**Surakarta**

**2017**

## **PENGESAHAN SKRIPSI**

**Skripsi dengan judul: Efek Ekstrak Daun Kelor (Moringa oleifera, Lam.)  
terhadap Gambaran Histopatologi Jantung Tikus Putih (Rattus norvegicus)**

### **Model Hiperkolesterolemia**

Raden Ismail Hafidh Adinugroho, NIM: G0013193, Tahun: 2017

Telah diuji dan sudah disahkan di hadapan **Dewan Penguji Skripsi**

Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Pada Hari Jumat, tanggal 25 Januari 2017

### **Pembimbing Utama**

Nama : **Endang Listyaningsih S, dr., M.Kes**

NIP : 19640810 199802 2 001 (.....)

### **Pembimbing Pendamping**

Nama : **Muthmainah, dr., M.Kes**

NIP : 19660702 199802 2 001 (.....)

### **Penguji**

Nama : **Tri Agusti Sholikhah dr. M.Sc.**

NIP : 19810829 200912 2 004 (.....)

Ketua Tim Skripsi

Surakarta, .....  
Kepala Program Studi

**Kusmadewi Eka Damayanti, dr., M.Gizi**  
NIP. 19830509 200801 2 005

**Sinu Andhi Jusup, dr., M.Kes**  
NIP. 19700607 200112 1 002

## **PERNYATAAN**

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 25 Januari 2017

**Raden Ismail Hafidh Adinugroho**

NIM. G0013193

## ABSTRAK

**Raden Ismail Hafidh Adinugroho, G0013193, 2017.** Efek Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lam.) terhadap gambaran histopatologi Jantung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

**Pendahuluan :** Daun kelor mengandung flavonoid, polifenol dan  $\beta$ -sitosterol yang dapat mengurangi perlemakan pada jantung. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah ekstrak etanolik daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dapat mengurangi perlemakan pada jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia.

**Metode Penelitian:** Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik dengan rancangan *post test only control group design*. Sampel berupa tikus putih jantan dengan galur *Sprague Dawley*, berat badan 150-200 gram, berusia 2-3 bulan. Sampel diambil secara *incidental sampling*. Sampel sebanyak 28 ekor tikus dibagi 4 kelompok secara acak, masing-masing kelompok berisi 7 ekor tikus. Kelompok tersebut terdiri dari KK, K(-), K1 dan K2. Kelompok K(-), K1, dan K2 diberikan diet tinggi lemak selama 42 hari. Kelompok K1 dan K2 masing-masing diberikan ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis 200 mg/kgBB dan 400 mg/kgBB pada hari ke-42 hingga hari ke-70. Setelah pemberian ekstrak selesai, sehari setelahnya dilakukan terminasi dan pengambilan jantung untuk pembuatan preparat dengan pengecatan hematoxilin eosin. Data luas area lemak diamati dengan mikroskop cahaya pada perbesaran 1000x. Data kemudian dianalisis menggunakan uji komparatif *Kruskal Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Mann Whitney*. ( $\alpha=0,05$ )

**Hasil :** Hasil pengamatan luas area pada KK, K(-), K1, K2 berturut-turut  $378,81 \pm 53,32$ ;  $1280,15 \pm 133,94$ ;  $386,74 \pm 57,87$ ; dan  $326,1 \pm 29,89 \mu\text{m}^2$ . Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan  $p=0,000$  ( $p<\alpha$ ). Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p<0,05$ ) diantara semua kelompok tikus, kecuali antara kelompok KK dan K1. Antara kelompok KK dan K1 menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dengan nilai  $p=0,633$  ( $p>0,05$ ).

**Simpulan :** Pemberian ekstrak etanolik daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam.) dapat mengurangi *steatosis*/perlemakan pada gambaran histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia.

---

**Kata kunci :** Ekstrak etanolik daun kelor, jantung, perlemakan jantung, *steatosis* jantung, tikus.

## ABSTRACT

**Raden Ismail Hafidh Adinugroho, G0013193, 2017.** *Effect of Moringa Leaf Extract (Moringa oleifera, Lam.) on Histopathological Structure of Heart from Hypercholesterolemia Rat Model (Rattus norvegicus). Mini Thesis. Faculty of Medicine, Sebelas Maret University.*

**Introduction:** *Moringa leaves contain flavonoids, polyphenols, and  $\beta$ -sitosterol so that it can reduce fatty infiltration at heart. This study aims to determine whether the extract of Moringa leaf (Moringa oleifera Lam.) Can lower the fatty infiltration of heart from hypercholesterolemia rat model (Rattus norvegicus).*

**Methods:** *This study is an experimental laboratory with post test only control group design. A sample of male rats which consist of Sprague Dawley rats, weight 150-200 g, aged 2-3 months. The sampling technique used is incidental sampling. 28 Samples were randomly divided four groups, each group containing 7 rats. The group consist KK, K(-), K1 and K2. Group K (-), K1, and K2 is given a high-fat diet for 42 days. Group K1 and K2 were each given Moringa leaf extract at a dose of 200 mg/kg and 400 mg/kg on day 42<sup>nd</sup> until day 70<sup>th</sup>. After the administration extract is complete. Termination is performed a day later and heart is prepared for specimen making with hematoxylin eosin staining. Data of fat area was observed with 1000x magnification on light microscope. The data were analyzed using Kruskal comparative test and then Post Hoc Mann Whitney test. ( $\alpha = 0.05$ )*

**Results:** *The observation area in KK, K (-), K1, K2 respectively 378,81 $\pm$ 53,32; 1280,15 $\pm$ 133,94; 386,74 $\pm$ 57,87; and 326,1 $\pm$ 29,89  $\mu$ m. Walliss Kruskal test results showed  $p = 0.000$  ( $p < \alpha$ ). Mann Whitney test results showed no significant difference ( $p < 0.05$ ) among all groups of mice, except between groups of KK and K1. Between KK and K1 groups showed no significant difference with  $p = 0.633$  ( $p > 0.05$ ).*

**Conclusion:** *The extract of leaves of Moringa (Moringa oleifera Lam.) Can reduce steatosis / fatty liver histopathology picture rat heart (Rattus norvegicus) model of hypercholesterolemia.*

---

**Keywords:** Moringa leaf extract, heart, fatty heart, cardiac steatosis, rat.

## PRAKATA

Puji syukur Penulis panjatkan kepada Allah SWT karena berkat rahmat dan ridha-Nya Penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lam.) terhadap Gambaran Histopatologi Jantung Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Hiperkolesterolemia.”.

Dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini, Penulis banyak mendapatkan pengarahan, bimbingan, bantuan, serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, Penulis ingin menyampaikan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. Hartono, dr., M.Si selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret.
2. Tim Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret yang telah membantu kelancaran pembuatan skripsi ini.
3. Endang Listyaningsih S, dr., M.Kes selaku Pembimbing Utama yang telah banyak memberikan waktu, pengarahan, bimbingan, masukan, dan motivasi kepada Penulis.
4. Muthmainah, dr., M.Kes selaku Pembimbing Pendamping yang telah banyak memberikan waktu, pengarahan, bimbingan, masukan, dan motivasi kepada Penulis.
5. Tri Agusti Sholikah dr. M.Sc. selaku Penguji Utama yang telah banyak memberikan masukan, nasihat, koreksi, saran dan dukungan.
6. Ketua laboratorium dan seluruh staf Laboratorium Gizi PSPG UGM dan Histologi FK UNS untuk segala bantuan dan kemudahannya.
7. Kedua orang tua, Bapak Ir. R. Bambang Sudarsono, Ibu Ir. Titik Tribudiwati, M.T. serta adik RR. Shafira Meisy S, S.Farm dan R. Adrian Rafli P yang telah banyak memberi doa dan dukungan.
8. Wakhid, Khaniva, dan Tristira yang telah membantu jalannya penelitian serta pengalaman berharga selama penelitian berjalan, Keluarga Asisten Histologi 2013, Keluarga seperjuangan BEM FK UNS Kabinet Inklusif, Keluarga Kementerian Kominfo, Tiga serangkai dan Seluruh Geng Kobra yang telah banyak memberi dukungan.
9. Semua pihak yang telah membantu menyelesaikan penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Tak ada gading yang tak retak. Penulis menyadari sepenuhnya bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kekurangan karena keterbatasan waktu, tenaga, maupun pengetahuan dari Penulis. Oleh karena itu, Penulis senantiasa menerima saran dan masukan untuk menyempurnakan skripsi ini. semoga skripsi ini bermanfaat bagi ilmu kedokteran pada khususnya dan masyarakat pada umumnya.

Surakarta, 25 Januari 2017

Raden Ismail Hafidh Adinugroho

## DAFTAR ISI

PRAKATA .....	vi
DAFTAR ISI .....	vii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian .....	3
D. Manfaat Penelitian .....	3
BAB II LANDASAN TEORI	
A. Tinjauan Pustaka.....	4
1. Jantung.....	4
a. Struktur Anatomis Jantung.....	4
b. Struktur Histologis .....	6
c. Fisiologi Jantung .....	8
d. Metabolisme Lemak di Jantung.....	9
2. Kolesterol .....	10
a. Sumber Makanan Kolesterol Tinggi.....	11

b. Hiperkolesterol.....	12
3. Perlemakan Jantung .....	12
4. Tanaman Kelor ( <i>Moringa oleifera</i> , Lam.) .....	14
a. Taksonomi.....	15
b. Deskripsi Tumbuhan .....	15
c. Kandungan Daun Kelor.....	17
d. Mekanisme Daun Kelor dalam Menurunkan Kolesterol.....	19
e. Mekanisme Daun Kelor dalam Menurunkan Perlemakan.....	20
B. Kerangka Pemikiran.....	21
C. Hipotesis .....	22

### BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian .....	23
B. Lokasi Penelitian.....	23
C. Subyek Penelitian .....	23
1. Populasi Penelitian.....	23
2. Sampel Penelitian.....	24
D. Teknik Sampling.....	24
E. Rancangan Penelitian.....	24
F. Identifikasi Variabel Penelitian .....	26
G. Definisi Operasional Variabel Penelitian .....	26
H. Instrumen Penelitian .....	30
I. Cara Kerja.....	31



J. Alur Penelitian .....	39
K. Teknik Analisis Data.....	40
BAB IV HASIL PENELITIAN	
A. Data Hasil Penelitian.....	41
B. Analisis Data.....	42
BAB V PEMBAHASAN .....	45
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	
A. Simpulan.....	50
B. Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51
LAMPIRAN .....	54

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2.1.</b> Makanan tinggi kolesterol .....	8
<b>Tabel 2.3.</b> Komposisi pada 100 g daun kelor. ....	17
<b>Tabel 4.1.</b> Tabel rerata area lemak jantung antar kelompok .....	41
<b>Tabel 4.2.</b> Uji normalitas <i>Kolmogorov-Smirnov</i> .....	42
<b>Tabel 4.3.</b> Hasil uji <i>Mann Whitney</i> antar kelompok .....	43

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1.</b> Perlemakan pada jantung .....	12
<b>Gambar 2.2.</b> Tanaman kelor dengan daun dan bunga .....	14
<b>Gambar 3.1.</b> Skema rancangan penelitian .....	25
<b>Gambar 3.2.</b> Skema alur kerja penelitian.....	39

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b>	Data Primer .....	54
<b>Lampiran 2.</b>	Hasil Uji Statistik .....	57
<b>Lampiran 3.</b>	Foto Preparat .....	63
<b>Lampiran 4.</b>	Foto Kegiatan .....	65
<b>Lampiran 5.</b>	<i>Ethical Clearance</i> .....	67
<b>Lampiran 6.</b>	Surat Izin Penelitian .....	68

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Masalah Obesitas dan hiperkolestrolema merupakan penyakit yang semakin sering dijumpai pada beberapa tahun terakhir. Globalisasi dan perubahan pola konsumsi masyarakat Indonesia menyebabkan tingginya prevalensi hiperkolestrolema di Indonesia yang mencapai angka 35,9%. Kasus ini dikaitkan erat dengan meningkatnya penyakit kardiovaskular di Indonesia dan dunia (Kemenkes RI, 2014; Nelson, 2014).

Menurut WHO, pada tahun 2014 lebih dari 1,9 miliar orang dewasa berumur 18 tahun atau lebih yang tergolong kelebihan berat badan, dari jumlah tersebut lebih dari 600 juta mengalami obesitas. Tingginya konsumsi makanan berlemak dikaitkan erat dengan penyakit jantung dan kematian akibat serangan jantung. Sedangkan 17,5 juta orang meninggal setiap tahun karena penyakit kardiovaskuler, dan diperkirakan 31 % dari seluruh kematian di seluruh dunia (Anon, 2016).

Normalnya, jaringan lemak jantung merupakan jaringan lemak visceral yang berfungsi sebagai gudang energi yang penting, sebagai tempat penyimpanan

triasigliserol saat energi yang masuk banyak, dan sebagai penyedia asam lemak bebas saat berpuasa, keadaan lapar atau saat berolahraga, dalam keadaan patologis, jaringan lemak jantung bisa menjadi organ yang lipotoksik, protrombotik dan proinflamasi (Cherian et al., 2012).

Karena pada akhir-akhir ini masyarakat lebih memilih bahan alam sebagai terapi, maka pada penelitian kali ini peneliti menggunakan ekstrak daun kelor. Beberapa peneliti telah mencoba mengungkapkan manfaat daun kelor diantaranya penelitian tentang manfaat daun kelor sebagai hepatoprotektif, nefroprotektor, kardioprotektif pada tikus setelah diinduksi obat (Buraimoh et al., 2011). Namun penelitian terhadap gambaran histopatologi jantung setelah perlakuan diet tinggi lemak belum banyak dilakukan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek ekstrak daun kelor terhadap jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diberi diet tinggi lemak melalui pengamatan histologis dengan pewarnaan Hematoksilin-Eosin (HE).

Kelor (*Moringa oleifera*, Lam.) adalah tanaman perdu dengan karakteristik daun sebesar ujung jari berbentuk bulat telur tersusun majemuk, berbatang lunak rapuh dengan tinggi sampai 10 meter. Daun kelor mengandung flavonoid dan polifenol yang secara alami mempunyai kemampuan menangkal radikal bebas. Kandungan  $\beta$ -sitosterol pada daun kelor dapat menurunkan LDL pada serum dan mengurangi absorpsi kolesterol dari dinding usus (Moyo et al., 2012; Rajanandh et al., 2012).

## **B. Rumusan Masalah**

Apakah pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dapat mempengaruhi gambaran histopatologi otot jantung tikus putih (*rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia ?

## **C. Tujuan**

Mengetahui apakah ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dapat mempengaruhi gambaran histopatologi otot jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia.

## **D. Manfaat Penelitian**

### **1. Manfaat Teoritis**

- a. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang uji pengaruh ekstrak etanolik daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) terhadap gambaran histopatologi otot jantung tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) setelah mengalami perlemakan (Steatosis).
- b. Penelitian ini menjadi acuan untuk melakukan penelitian lebih lanjut pada penyakit akibat hiperkolesterolemia.

### **2. Manfaat Aplikatif**

Penelitian ini memberi informasi kepada masyarakat mengenai manfaat daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam.) sebagai salah satu sumber tanaman berkhasiat yang kaya antioksidan.

## **BAB II**

### **LANDASAN TEORI**

#### **A. Tinjauan Pustaka**

##### **1. Jantung**

Jantung merupakan organ dalam yang tersusun atas otot jantung, yang berfungsi untuk mempertahankan sirkulasi darah. Untuk mencapai seluruh sel di tubuh dan menukarkan material dengan sel, darah harus dipompa secara terus-menerus oleh jantung melalui pembuluh darah di tubuh. Bagian kiri jantung memompa darah melewati 120.000 km pembuluh darah sedangkan bagian kanan jantung memompa darah ke paru-paru agar darah dapat menukarkan karbondioksida yang dibawa dengan oksigen (Dorland, 2012; Tortora & Derrickson, 2012).

##### **a. Struktur Anatomis Jantung**

Jantung merupakan organ yang relatif kecil, kira-kira seukuran tetapi tidak memiliki bentuk yang sama dengan satu kepal tangan. Jantung memiliki panjang sekitar 12 cm, lebar 9 cm pada titik terlebar, dengan massa rata-rata pada wanita dewasa 250 g dan laki-laki dewasa 300 g (Tortora & Derrickson, 2012).

Jantung berada di atas diafragma, mendekati garis tengah dari rongga dada (*cavitas thoracica*). Jantung berada di mediastinum, regio



di anatomi yang berada di antara tulang rusuk (*os. costae*) hingga tulang belakang (*columna vertebrae*) yang berada diantara paru-paru. Apeks, ujung yang berbentuk runcing terbentuk dari ujung dari ventrikel kiri dan berada tepat di atas diafragma. Apeks mengarah ke anterior, inferior dan ke kiri. Basis dari jantung merupakan permukaan posteriornya yang terbentuk dari atrium kiri jantung (Tortora & Derrickson, 2012).

Disamping apeks dan basis, jantung memiliki beberapa permukaan dan batas. Permukaan anterior berada di dalam tulang sternum dan tulang rusuk. Permukaan inferior merupakan bagian jantung yang berada diantara apeks dan batas kanan dan sisanya berada diatas diafragma. Batas kanan jantung menghadap ke paru kanan dan melebar dari permukaan inferior ke basis. Batas kiri jantung, atau biasa disebut batas pulmoner atau pulmonary border, menghadap ke paru kiri dan meluas dari basis ke apeks jantung (Tortora & Derrickson, 2012).

Jantung mempunyai empat buah ruangan. Dua ruang atas yang menerima darah disebut atrium (ruang masuk), dan dua ruang bagian bawah berfungsi sebagai pemompa disebut ventrikel (perut kecil). Sepasang atrium menerima darah dari pembuluh darah yang disebut vena, sedangkan ventrikel memompakan darah ke pembuluh darah yang disebut arteri. Pada permukaan depan setiap atrium ada struktur bernama aurikula, (*auri*=telinga), karena strukturnya yang mirip dengan telinga anjing. Aurikula memberikan tambahan volume kepada atrium

sehingga atrium dapat menerima jumlah darah lebih banyak. Pada permukaan juga terdapat cekungan yang disebut *sulci*, yang merupakan tempat pembuluh darah koroner dan jaringan lemak yang bervariasi. Setiap sulkus (bentuk tunggal dari *sulci*) menandai batas eksternal antar ruang jantung. Sulkus koroner (koron=berbentuk mahkota) melingkari jantung dan memberikan tanda eksternal antara atrium dan ventrikel. Sulkus interventrikular anterior merupakan cekungan dangkal pada permukaan anterior yang menandai batas antara ventrikel kiri dan ventrikel kanan (Tortora & Derrickson, 2012).

#### **b. Struktur Histologis Jantung**

Dinding jantung terdiri dari tiga lapisan : epikardium (lapisan luar), miokardium (lapisan tengah), dan endokardium (lapisan dalam). Epikardium tersusun dari dua lapisan jaringan. Lapisan terluar, disebut lapisan viseral dari perikardium serosa. Lapisan tipis dan transparan ini tersusun oleh mesotelium. Di bawah mesotelium merupakan lapisan jaringan fibroelastik dan jaringan lemak. Jumlah jaringan lemak bervariasi setiap orang, tergantung pada jumlah lemak tubuh seseorang dan pada umumnya bertambah seiring umur. Epikardium memberikan struktur licin dan halus ke lapisan terluar jantung. Pada epikardium terdapat pembuluh darah, pembuluh limfatik dan pembuluh yang memberikan suplai ke miokardium. Epikardium dapat disetarakan

dengan lapisan viseral perikardium, yaitu membran serosa tempat jantung bertempat (Tortora & Derrickson, 2012; Mescher, 2014).

Lapisan tengah miokardium bertanggungjawab terhadap fungsi memompa pada jantung dan terdiri dari sel otot jantung, miokardium. Sel-sel di dalam rantai tersebut sering bercabang, dan berikatan dengan sel di rantai yang berdekatan. Akibatnya, jantung terdiri atas berkas-berkas sel yang teranyam erat sedemikian rupa sehingga dapat menimbulkan gelombang kontraksi khas yang berakibat pemerasan isi ventrikel jantung. Otot jantung merupakan otot involunter bercabang yang ditemukan di dinding jantung yang merupakan pondasi dari jantung, khususnya bagian miokardium. Pada umumnya otot jantung mempunyai panjang 50-100  $\mu\text{m}$  dan berdiameter 14  $\mu\text{m}$ . Pada umumnya mempunyai 1 atau 2 inti sel. Ujung dari otot jantung berhubungan dengan otot jantung lainnya dengan penebalan tidak teratur dari sarkolema yang disebut diskus interkalatus. Pada diskus interkalatus terdapat desmosom, yang menghubungkan antar otot dan *gap junction* yang menyebabkan potensial aksi dapat mengalir dari satu sel ke sel lain. *Gap junction* memberi kemampuan otot jantung di atrium atau ventrikel dapat berkontraksi sebagai satu unit yang terkoordinasi. Mitokondria pada otot jantung berukuran lebih besar dan berjumlah lebih banyak pada otot jantung dibandingkan mitokondria di otot skelet. Pada otot jantung, 25% ruang sitoplasma ditempati oleh

mitokondria; pada otot skelet, hanya 2% ruang sitoplasma yang diisi oleh mitokondria (Tortora & Derrickson, 2012; Mescher, 2014).

Lapisan paling dalam-endokardium merupakan lapisan tipis dari endotelium yang berada di atas lapisan tipis jaringan ikat longgar yang mengandung elastin dan kolagen; memberikan tekstur halus kepada ruang jantung dan katup jantung. Lapisan endotel yang halus meminimalisir gesekan pada saat darah melewati jantung. Lapisan endokardium berlanjut keluar jantung sebagai endotelium arteri besar (Tortora & Derrickson, 2012; Mescher, 2014).

### **c. Fisiologi Jantung**

Aktivitas elektrik ritmik merupakan alasan dari detak jantung yang berdurasi seumur hidup. Sumber dari aktivitas elektrik merupakan jaringan dari serabut otot jantung yang berdiferensiasi menjadi serabut autoritmik karena mereka bisa mencetuskan impulsnya sendiri. Serabut ini mempunyai bentuk fusiform, dengan miofibril yang lebih kecil dari sel otot yang berdekatan. Serabut autoritmik secara berulang menghasilkan potensial aksi yang memicu kontraksi jantung. Serabut autoritmik tetap menghasilkan potensial aksi bahkan saat jantung telah di ambil sebagai contoh ketika jantung ditransplantasikan dan sarafnya telah dipotong. Potensial aksi yang dimulai oleh nodus sinoatrium-nodus SA berjalan sepanjang sitem konduksi dan menyebarkan eksitasi

ke serabut otot jantung yang dapat bekerja yang disebut serabut kontraktil (Tortora & Derrickson, 2012).

#### **d. Metabolisme Lemak di Jantung**

Jantung mempunyai kebutuhan energi yang tinggi dan konstan untuk menjaga fungsi kontraktilnya, dimana fungsi ini didapat dari  $\beta$ -oksidasi asam lemak rantai panjang. Kontrol dari  $\beta$ -oksidasi asam lemak merupakan proses yang kompleks, dan gangguan pada  $\beta$ -oksidasi dapat berkontribusi ke patologi kardiologis. Asam lemak bebas (*Free fatty acid-FFA*) yang dimetabolisme oleh otot jantung terutama didapat dari arteri koroner. Oksidasi asam lemak rantai panjang menyediakan 50-70% energi yang diproduksi oleh jantung. Dalam hal ini, jaringan lemak epikardial berperan sebagai zona buffer yang melindungi jantung dari kadar FFA yang berlebih, dan menyediakan energi lokal untuk otot jantung ketika kadar FFA dalam darah rendah. Ekspresi protein penanda untuk lemak coklat (*brown fat*), *uncoupling protein-1* (UCP-1) dalam jaringan lemak jantung memberikan petunjuk bahwa kemungkinan jaringan lemak jantung pada manusia mempunyai fungsi seperti lemak coklat yang salah satunya adalah proses *thermogenesis* pada otot jantung. Ekspresi UCP-1 yang tinggi pada jaringan lemak jantung dibandingkan jaringan lemak lain dapat menandakan adanya sel lemak coklat dalam jaringan ini. Dibandingkan dengan depot lemak visceral lain, jaringan lemak jantung mempunyai kapasitas lebih tinggi untuk

melepaskan dan mengambil FFA dan utilitas glukosa yang lebih rendah (Cherian et al., 2012).

## 2. Kolesterol

Kolesterol merupakan lipid amfipatik dan pada keadaan demikian menjadi komponen struktural esensial yang membentuk membran sel serta lapisan eksterna lipoprotein plasma. Kolesterol terdapat di dalam jaringan dan lipoprotein plasma yang bisa dalam bentuk kolesterol bebas atau gabungan dengan asam lemak rantai panjang sebagai ester kolesteril. Unsur ini disintesis di banyak jaringan dari asetik-KoA dan akhirnya dikeluarkan tubuh di garam empedu sebagai garam kolesterol. Kolesterol merupakan prekursor semua senyawa steroid di dalam tubuh, seperti kortikosteroid, hormon seks, asam empedu dan vitamin D. Kolesterol secara khas adalah produk metabolisme hewan dan karenanya terdapat di makanan yang berasal dari hewan seperti kuning telur, daging, hati dan otak (Murray et al., 2003).

Ester kolesteril merupakan bentuk penyimpanan kolesterol yang ditemukan pada sebagian besar jaringan tubuh. Senyawa ini diangkut sebagai muatan di dalam inti hidrofobik lipoprotein. *Low Density Lipoprotein* (LDL) merupakan perantara ambilan kolesterol dan ester kolesteril ke dalam banyak jaringan. Kolesterol bebas dikeluarkan dari jaringan oleh *High Density Lipoprotein* (HDL) dan kemudian diangkut ke hati untuk konversi menjadi

asam empedu dalam proses yang dikenal sebagai pengangkutan balik kolesterol (Murray et al., 2003).

Faktor- faktor yang mempengaruhi konsentrasi kolesterol meliputi jumlah kolesterol yang dicerna setiap harinya, faktor genetik, kadar hormon esterogen, stress dan penyakit pada hati (Hall, 2011).

#### a. Sumber Makanan Tinggi Kolesterol

Menurut USDA (2016), makanan berdasarkan kandungan kolesterolnya dibagi menjadi 4 yaitu makanan dengan kolesterol tinggi, kolesterol sedang, kolesterol rendah dan tanpa kolesterol.

Makanan dengan kolesterol tinggi (>100 mg/100g) dapat dilihat pada tabel 2.1.

**Tabel 2.1.** Makanan tinggi kolesterol

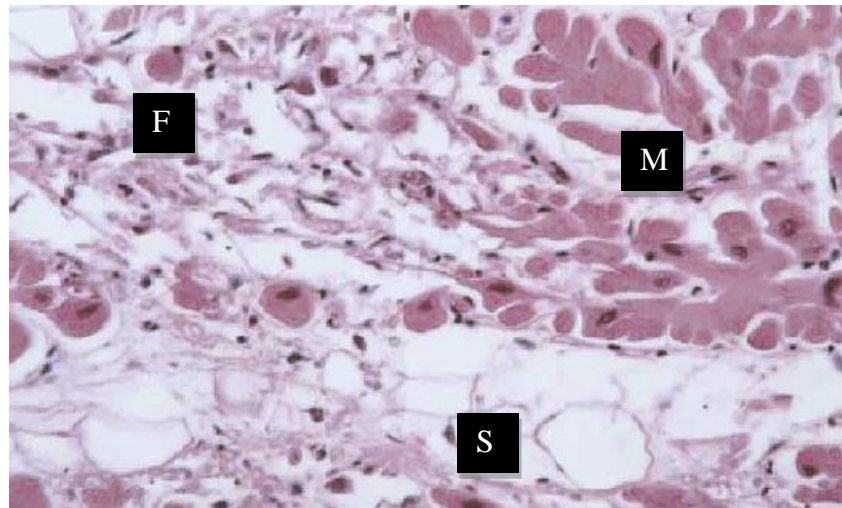
<b>Bahan Makanan (per 100g)</b>	<b>Kolesterol (mg/dL)</b>
Otak sapi	3100
Kuning telur	1085
Telur utuh	372
Lobster	200
Krim kocok	137
Udang	127
Keju	108

Sumber : USDA (2016)

### b. Hiperkolesterolemia

Hiperkolesterolemia merupakan kondisi meningkatnya kadar kolesterol dalam plasma. Ketika kadar kolesterol sangat tinggi dalam plasma akan menyebabkan stress oksidatif akibat ketidakseimbangan antara enzim pro dan anti oksidan yang menyebabkan overproduksi radikal bebas (superoksida, radikal hidoksil, dan lipid radikal). Pada studi klinis menunjukkan bahwa pasien dengan hiperkolesterolemia aktivitas antioksidan primer *superoxide dismutase* (SOD) yang dihasilkan mitokondria menurun dikarenakan radikal bebas atau polimorfisme gen (Duarte et al., 2010).

### 3. Perlemakan Jantung (*Fatty Heart*)



**Gambar 2.1.** Perlemakan dan gambaran fibrosis pada jantung. M = otot jantung potongan melintang; S = lemak antar otot jantung; F = jaringan parut / fibrosis. Sumber : Thiene (2005)



Perlemakan jantung didefinisikan sebagai adanya tetes-tetes lemak di dalam sel otot jantung yang muncul dikarenakan akumulasi lemak yang berlebihan dalam otot jantung yang dapat diamati pada gambar 2.1. Lemak intramiokardial (lemak di dalam sel otot jantung) yang meningkat pada penderita diabetes tipe 2 dan obesitas. Hal ini diasosiasikan dengan massa ventrikel kiri yang meningkat, fungsi diastolik yang terganggu, kerja jantung meningkat, dan meningkatnya konsumsi oksigen oleh otot jantung. Definisi lain dari perlemakan jantung adalah ketebalan atau volume lapisan jaringan lemak jantung yang meningkat. Lapisan tersebut dideskripsikan sebagai lemak epikardial (Antara otot jantung dan perikardium visceralis), atau lemak perikardial (Antara dua lapisan perikardium) (Tudies et al., 2011).

Jaringan lemak jantung pada awalnya berfungsi sebagai tempat penyimpanan asam lemak dan fungsi proteksi ke penyediaan energi saat kadar asam lemak menurun. Kondisi saat jaringan lemak jantung meningkat dan menjadi berlebih diasosiasikan dengan inflamasi, beberapa macam kerusakan pada sel otot jantung dan penyakit jantung. Meningkatnya kadar asam lemak bebas dianggap sebagai salah satu penyebab utama kerusakan otot jantung dan inflamasi kronis pada jantung. Pada jantung yang sehat, asam lemak merupakan bahan bakar utama yang bertanggungjawab atas produksi 70% dari total ATP yang dihasilkan pada otot jantung. Asam lemak intraselular mengaktifkan faktor transkripsi *peroxisome proliferator activated receptor alpha* (PPAR $\alpha$ ) yang meregulasi gen terkait dengan metabolisme asam lemak. Termasuk dalam

pengambilan, esterifikasi, transport mitokondrial, dan  $\beta$ -oksidasi asam lemak. Saat asam lemak meningkat dalam jantung, PPAR $\alpha$  teraktivasi secara umpan-maju. Oleh karena itu, karena *overload* asam lemak, baik oksidasi dan esterifikasi asam lemak meningkat dan pada akhirnya akumulasi trigliserida terjadi dikarenakan kelelahan oksidasi (Tudies et al., 2011).

Oksidasi asam lemak yang meningkat diasosiasikan dengan meningkatnya produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang menyebabkan disfungsi sel otot jantung dan kardiomiopati. Asam lemak dapat dialihkan jalur metabolisme bukan  $\beta$ -oksidasi yang menghasilkan intermediet lipotoksik dan komponen pro-apoptotik (Tudies et al., 2011).

#### 4. Tanaman Kelor



**Gambar 2.2.** Tanaman Kelor dengan daun dan bunga.

### a. Taksonomi

Taksonomi kelor menurut Mishra et al. (2011) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Dilleniidae
Ordo	: Capparales
Famili	: Moringaceae
Genus	: Moringa
Spesies	: Oleifera, Lam

### b. Deskripsi Tumbuhan

Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*, Lam) mempunyai sinonim *Guilandina moringa*, Lam ;*Hyperanthera moringa*, Willd, *Moringa nux-ben* Perr.;*Moringa pterygosperma*, Gaertn Tanaman kelor (*Moringa oleifera*,Lam) berasal dari kawasan sekitar Himalaya dan India kemudian menyebar ke kawasan disekitarnya sampai ke benua Afrika dan Asia . Di Indonesia dikenal dengan berbagai macam nama antara lain : Kelor (Indonesia, Jawa, Sunda, Bali, Lampung), Kerol (Bulu), Marangghi

(Madura), Moltong (Flores), Kelo (Gorontalo), Kelora (Bugis), Kawono (Sumba), Ongge (Bima) (Fahey, 2005).

Kelor (*Moringa oleifera*, Lam) adalah tanaman perdu dengan karakteristik daun sebesar ujung jari berbentuk bulat telur tersusun majemuk, berbatang lunak rapuh. Tumbuh subur mulai dari dataran rendah sampai ketinggian 700 m di atas permukaan laut. Tanaman Kelor (*Moringa oleifera*, Lam) dapat dikembangbiakkan dengan biji dan cangkok. Di Indonesia tanaman kelor (*Moringa oleifera*, Lam) dikembangbiakkan melalui cara vegetatif (cangkok). Dapat tumbuh di daerah tropis dan sub tropis dengan pH antara 4.5 – 8. Tanaman kelor (*Moringa oleifera*, Lam) sangat cepat tumbuh, dalam 3 bulan dapat tumbuh setinggi 3 m dan beberapa tahun dapat mencapai tinggi 12 m (Patois, 2009; Mahmood et al., 2010).

Semua bagian Kelor (*Moringa oleifera*, Lam) memiliki banyak manfaat, tidak hanya kaya nutrisi tetapi dapat menyembuhkan dan mencegah berbagai penyakit oleh karena itu dikenal sebagai *miracle tree*, *natural gift*, *mother's best friend*. Daun pada tanaman kelor merupakan bagian yang mengandung banyak nutrisi seperti vitamin, karoten, polifenol, flavonoid, alkaloid, glukosinolat, tanin dan saponin. Daun kelor dapat dipanen setelah 60 hari dari masa menyemai biji, dapat dipanen tujuh kali dalam satu tahun (Mahmood et al., 2010).

### c. Kandungan Daun Kelor

#### 1) Vitamin, Beta karoten/Karotenoid, Mineral

Daun kelor merupakan salah satu tanaman yang kaya akan vitamin dan mineral. Komposisi vitamin,  $\beta$ -karoten dan mineral dalam setiap 100 gram daun kelor dapat dilihat pada tabel 2.2.

**Tabel 2.2.** Komposisi pada 100 g daun kelor.

	Kandungan (/100gram)
Vitamin A ekuivalen	378 $\mu$ g
Vitamin B1-Tiamine	0.257 mg
Vitamin B2-Riboflavin	0.660 mg
Vitamin B3-Niacin	2.22 mg
Vitamin B5	0.125 mg
Vitamin B6	1.2 mg
Vitamin B9	40 $\mu$ g
Vitamin C	51.7 mg
Kalsium	259 mg
Potasium	337 mg
Zinc	0,6 mg

Sumber : USDA (2016)

Daun Kelor (*Moringa Oliefera*, Lam) segar mengandung vitamin A empat kali lebih banyak dari wortel, vitamin C tujuh kali lebih banyak dari jeruk, potasium tiga kali dari pisang, protein dua kali dari susu. Mikronutrien pada daun kelor (*Moringa oliefera*, Lam) yang dikeringkan mengandung vitamin A sepuluh kali lebih banyak dari wortel, kalsium 17 kali lebih banyak dari susu, zat besi 25 kali lebih banyak dari

bayam, protein sembilan kali lebih banyak pada yogurt, tetapi vitamin C menjadi setengah kali dari jeruk (Fahey, 2005).

Kandungan vitamin yang tinggi pada daun kelor (*Moringa Oleifera*, Lam) yakni vitamin A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, C dan E. Vitamin A berperan dalam proses penglihatan, reproduksi, diferensiasi sel, proliferasi sel dan apoptosis. Vitamin C berperan dalam konversi kolesterol menjadi empedu, menurunkan kadar kolesterol dan menaikkan penyerapan zat besi di usus. Vitamin C dan E berfungsi sebagai antioksidan melindungi tubuh dari efek radikal bebas, polutan dan toksin (Fahey, 2005).

## 2) Polifenol.

Daun Kelor (*Moringa oleifera*, Lam) mengandung polifenol fenolik sebanyak 120,33 TE/g, flavonoid sebanyak 295,01 QE/g, flavonol sebanyak 132,74 QE/g dan proantosianidin 32,59 QE/g (Moyo et al., 2012).

Polifenol terdapat di tanaman secara luas dan terdapat pada daun, bunga dan serbuk sari. Komponen tersebut digunakan untuk memodulasi aktivitas peroksidase lemak. Hal ini dikarenakan aktivitas anti-inflamasi dan aktivitas anti oksidan dari polifenol. Komponen fenol dari daun kelor (*Moringa Oleifera*, Lam.) mempunyai kemampuan untuk

mengabsorpsi dan menetralkan radikal bebas atau peroksida.

Kemampuan ini dapat dikarenakan adanya aktivitas redox yang dapat menghambat peroksidase (Fahey, 2005; Sreelatha & Padma, 2009; Vongsak et al., 2013).

**d. Mekanisme Daun Kelor dalam Menurunkan Kolestrol.**

Daun kelor (*Moringa Oleifera*, Lam) mengandung 0,09%  $\beta$ -sitosterol. Sterol pada tanaman diketahui dapat menghambat absorpsi dari kolesterol pada usus.  $\beta$ -sitosterol merupakan salah satu sterol pada tanaman yang mengurangi level kolesterol pada serum dengan mengurangi konsentrasi LDL plasma serum dan menghambat reabsorpsi kolesterol endogen serta meningkatkan eksresi kolesterol di feses dalam bentuk steroid netral. Jadi dapat disimpulkan bahwa  $\beta$ -sitosterol merupakan komponen aktif dalam daun Kelor (*Moringa Oleifera*, Lam) dalam menurunkan kolesterol (Rajanandh et al., 2012).

**e. Mekanisme Daun Kelor dalam Menurunkan Perlemakan jantung.**

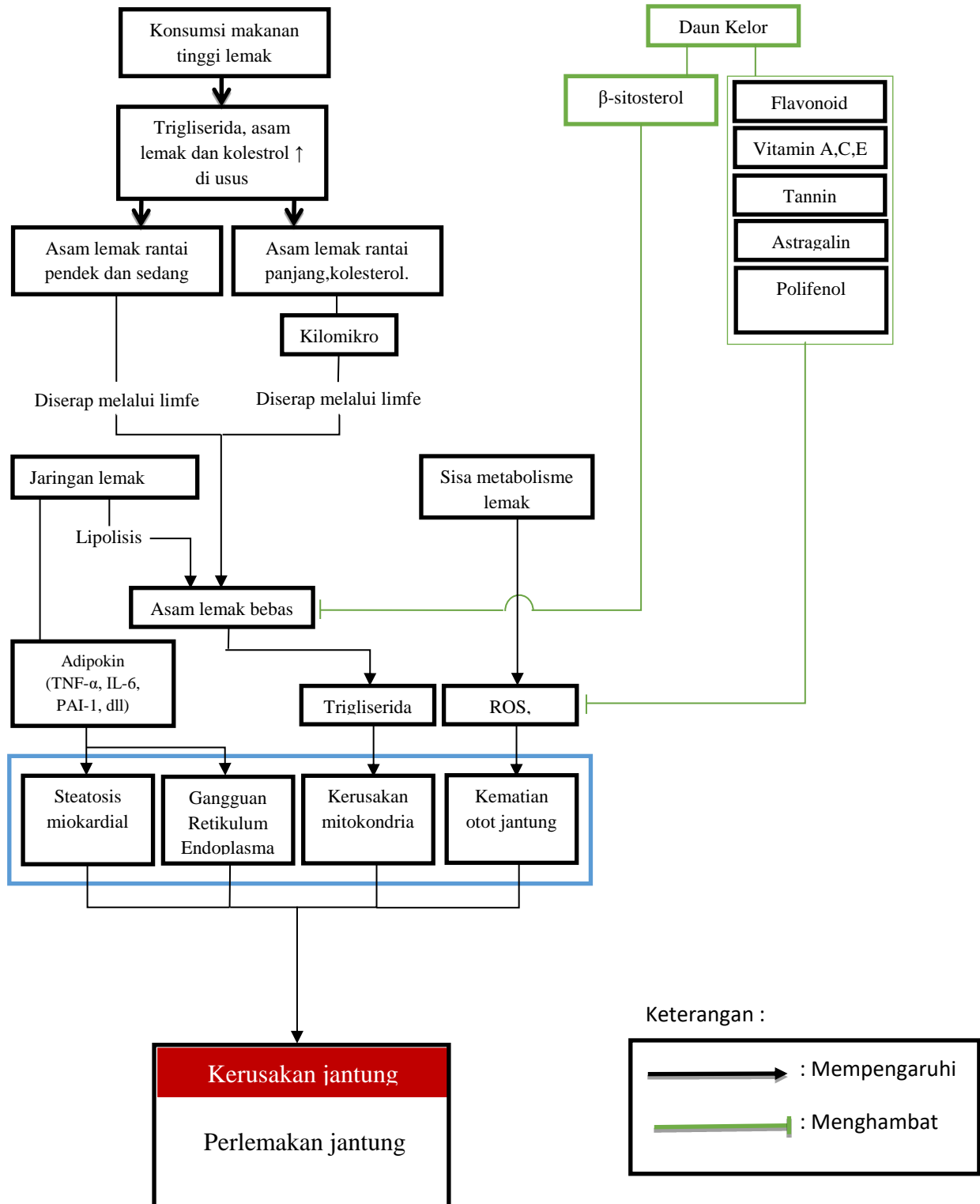
Senyawa  $\beta$ -sitosterol dan komponen polifenol pada daun kelor (*Moringa Oleifera*, Lam) memegang peranan penting dalam proses memperbaiki perlemakan jantung. Senyawa  $\beta$ -sitosterol dapat menurunkan level kolesterol, sehingga dapat mengurangi lemak bebas dalam serum. Demikian dapat

mengurangi trigliserida dan penambahan massa pada jaringan lemak jantung. Oleh karena itu, proses yang menyebabkan perlemakan jantung dapat dihambat. Steatosis / perlemakan jantung merupakan perubahan yang *reversible*. Sehingga ketika sumber kerusakan dihilangkan atau dikurangi maka jumlah perlemakan jantung dapat berkurang (Cherian et al., 2012; Rajanandh et al., 2012).

Senyawa flavonoid dapat secara langsung bereaksi dengan anion superoksida dan secara konstan menghambat peroksidase lemak. Aktivitas ini dapat dikaitkan dengan efek antioksidan yang secara alami dimiliki oleh polifenol dan flavonoid pada daun kelor (*Moringa Oleifera*, Lam) (Rajanandh et al., 2012).



## B. Kerangka Pemikiran



### **C. Hipotesis**

Hipotesis dalam penelitian ini adalah pemberian ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) memperbaiki gambaran kerusakan jantung secara histopatologi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik. Peneliti memberikan perlakuan terhadap sampel yang telah ditentukan yaitu berupa hewan coba di laboratorium yang dibagi dalam kelompok-kelompok dan dibandingkan berdasarkan status perlakuannya, yakni kelompok perlakuan dan kelompok kontrol (Budiarto, 2003).

#### **B. Lokasi Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Gizi Pusat Studi Pangan dan Gizi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dan di Laboratorium Histologi FK UNS Surakarta.

#### **C. Subjek Penelitian**

##### **1. Populasi Penelitian**

Populasi penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) dengan kriteria inklusi : berjenis kelamin jantan, galur *Sparague dawly*, usia 2-3 bulan, berat badan 150-200 g, dan tidak cacat fisik (tampak sehat). Adapun kriteria eksklusinya adalah tikus yang mati selama penelitian.

## 2. Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian berdasarkan rumus Federer yaitu :

$$(k-1)(n-1) \geq 15$$

$$(4-1)(n-1) \geq 15$$

$$3n-3 \geq 15$$

$$3n \geq 18$$

$$n \geq 6$$

k : jumlah kelompok

n : jumlah sampel dalam tiap kelompok

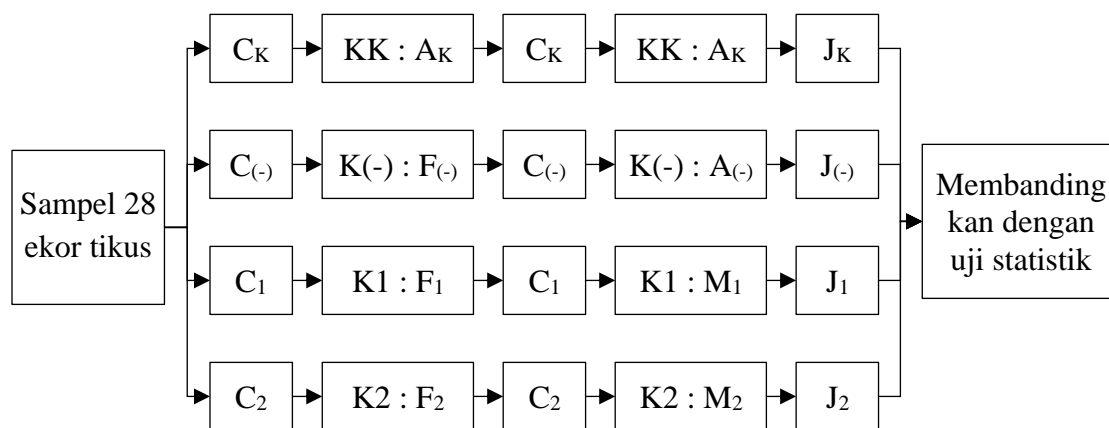
Pada penelitian ini digunakan 28 tikus putih *Sprague dawly* yang terbagi 4 kelompok perlakuan secara acak (*randomized*). Sehingga, masing-masing kelompok terdiri dari 7 tikus ( $n \geq 6$ ).

### D. Teknik Sampling

Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah *incidental sampling*. Pada teknik sampling ini sampel diperoleh dengan cara mengambil subyek yang berasal dari individu yang tersedia (Swarjana 2012).

### E. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah *post test only control group design*.



**Gambar 3.1** Skema Rancangan Penelitian

Keterangan:

KK : Kelompok kontrol normal

K(-): Kelompok kontrol negatif

K1 : Kelompok perlakuan 1

K2 : Kelompok perlakuan 2

C<sub>K</sub> : Pemeriksaan kadar kolesterol total pada KK

C<sub>(-)</sub> : Pemeriksaan kadar kolesterol total pada K(-)

C<sub>1</sub> : Pemeriksaan kadar kolesterol total pada K1

C<sub>2</sub> : Pemeriksaan kadar kolesterol total pada K2

A<sub>K</sub> : Pemberian akuades pada KK

F<sub>(-)</sub> : Pemberian diet tinggi lemak pada K(-)

F<sub>1</sub> : Pemberian diet tinggi lemak pada K1

F<sub>2</sub> : Pemberian diet tinggi lemak pada K2

A<sub>(-)</sub> : Pemberian akuades pada K(-)

M<sub>1</sub> : Pemberian ekstrak daun kelor dosis 1 pada K1

M<sub>2</sub> : Pemberian ekstrak daun kelor dosis 2 pada K2

J<sub>K</sub> : Pengamatan luas area lemak jantung pada KK

J<sub>(-)</sub> : Pengamatan luas area lemak jantung pada K(-)

J<sub>1</sub> : Pengamatan luas area lemak jantung pada K1

J<sub>2</sub> : Pengamatan luas area lemak jantung pada K2

#### **F. Identifikasi Variabel Penelitian**

1. Variabel bebas : Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam.)
2. Variabel terikat : Gambaran histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*).
3. Variabel luar
  - a. Terkendali : Galur hewan coba, jenis kelamin, umur, berat badan, suhu ruangan dan jenis makanan tikus semua diseragamkan.
  - b. Tak terkendali : Kondisi awal jantung tikus, kondisi psikologis hewan uji / stress, reaksi hipersensitivitas.

#### **G. Definisi Operasional Variabel**

1. Variabel bebas : Ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam.)

Yang dimaksud ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam.) pada penelitian ini adalah ekstrak dari daun tanaman Kelor yang didapat dengan teknik maserasi dengan pelarut etanol 70%. Ekstrak diberikan dalam dua dosis yaitu 40 mg /200 gBB ke kelompok perlakuan 1 dan 80

mg/200 gBB ke kelompok perlakuan 2. Ekstrak diberikan sekali sehari selama 28 hari berturut-turut secara peroral dengan sonde lambung. Daun Kelor yang digunakan berasal dari tanaman Kelor mulai dari daun kelima hingga kedelapan. Skala variabel adalah ordinal.

2. Variabel terikat : Gambaran histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*).

Yang dimaksud dengan gambaran histopatologis jantung tikus putih adalah gambaran mikroskopis dari otot jantung ventrikel kanan dan kiri tikus putih model hiperkolesterolemia yang telah mendapat perlakuan dengan ekstrak daun kelor. Gambaran mikroskopis otot jantung dinilai dengan mengamati luas area lemak yang terlihat pada tiap lapang pandang preparat otot jantung dengan pengecatan HE pada perbesaran mikroskop 1000 x di 6 lapang pandang. Luas area lemak diukur menggunakan Image raster. Skala ukuran variabel ini adalah numerik.

3. Variabel luar
  - a. Variabel perancu yang dapat dikendalikan
    - 1) Galur Hewan Coba

Variasi genetik memiliki peran dalam memberikan perbedaan tingkat respon makanan yang berpengaruh terhadap kadar kolesterol dan keadaan anatomis jantung. Hal ini diatasi dengan pemilihan subjek penelitian yang berasal dari galur yang

sama (galur *Sprague dawly*). Tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur *Sprague dawly* dalam penelitian ini didapatkan dari Laboraturium Gizi Pusat Studi Pangan dan Gizi UGM.

## 2) Jenis Kelamin

Jenis kelamin hewan coba yang digunakan adalah jantan. Hormon esterogen berpengaruh terhadap kadar kolesterol darah. Hormon esterogen tikus betina lebih tinggi dari tikus jantan. Sehingga pada penelitian ini tikus yang digunakan berjenis kelamin jantan supaya sampel bersifat homogen dan tidak terpengaruh hormon esterogen.

## 3) Umur

Usia hewan coba mempunyai pengaruh dalam penelitian. Kadar serum total kolesterol, trigliserida, LDL tikus jantan lebih tinggi dari betina pada usia 8 minggu, serta kadar HDL tikus stabil mulai usia 8 minggu- 40 minggu (Ihedioha et al., 2013). Oleh karena itu digunakan tikus dengan rentang usia 2-3 bulan untuk meminimalkan pengaruh usia.

## 4) Berat Badan

Berat badan hewan coba adalah 150-200 gram.



#### 5) Jenis Makanan

Dalam penelitian ini makanan merupakan variabel luar yang sepenuhnya dapat dikendalikan. Makanan yang diberikan yaitu makanan standar (pellet) BR-2.

#### 6) Suhu ruangan

Kandang hewan coba ditempatkan pada ruangan dengan suhu yang sama.

#### b. Variabel luar yang tidak dapat dikendalikan

##### 1) Kondisi Awal Jantung Tikus

Keadaan awal jantung masing-masing tikus tidak dapat diperiksa sebelum perlakuan diberikan sehingga peneliti tidak dapat mengetahui apakah terdapat kelainan pada jantung tikus.

##### 2) Kondisi Psikologis Tikus

Perlakuan yang berulang kali, suasana sekitar yang ramai dan gaduh, serta perkelahian antar tikus dapat mempengaruhi kondisi psikologis tikus. Untuk menyesuaikan faktor psikologis tikus, dilakukan pembagian kandang dengan luas kandang yang sama dan cukup. Jumlah populasi yang sama mencegah adanya dominasi hewan coba maupun kurangnya kuota makanan. Mengkondisikan kandang dalam

suasana tenang dan melakukan perlakuan yang sama juga dilakukan untuk mengantisipasi kondisi psikologis tikus.

### 3) Reaksi Hipersensitivitas

Sistem kekebalan tubuh dari hewan coba dapat bervariasi dan reaksi hipersensitivitas tidak di uji dalam penelitian ini.

## H. Instrumen Penelitian

### 1. Alat yang digunakan :

Alat yang digunakan dalam penelitian:

- a. kandang hewan coba
- b. timbangan digital analitik
- c. gelas ukur, pipet tetes, pipet ukur, pengaduk
- d. sonde lambung
- e. spektrofotometer
- f. alat bedah hewan percobaan (scalpel, gunting, pinset)
- g. alat untuk membuat preparat histologis dengan pengecatan HE
- h Mikroskop *Olympus CX-21*
- i. Opti Lab

## 2. Bahan yang digunakan:

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi :

- a. makanan standar hewan percobaan (BR-2)
- b. makanan tinggi lemak (kuning telur bebek 2cc/200mgBB dan minyak sisa penggorengan 2cc/200mgBB)
- c. akuabides
- d. bahan untuk membuat preparat histologis dengan pewarnaan HE alkohol 100%, alkohol 95%, alkohol 75%, xylol, parafin, hematoksin, eosin
- e. ekstrak etanolik daun kelor.

## I. Cara Kerja

### 1. Tahap Persiapan Penelitian

- a. Pembuatan *ethical clearance*
- b. Persiapan hewan coba
- c. Pembuatan pakan tinggi lemak

Pakan tinggi lemak terdiri dari kuning telur bebek 2cc/200gBB, minyak teroksidasi 1 cc/200gBB, *beef tallow* 2cc/200gBB.

- d. Pembuatan ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam.)

Pembuatan ekstrak daun kelor berasal dari daun kelor kering yang berwarna hijau segar mulai dari daun kelima sampai dengan daun kedelapan (daun terbentuk sempurna) yang tumbuh di Yogyakarta.

Cara melakukan ekstraksi adalah sebagai berikut : Daun kelor segar dikeringkan selama 48 jam dengan suhu 40°C kemudian diubah menjadi bentuk serbuk menggunakan mesin penyerbuk dengan saringan berdiameter 1 mm. Selanjutnya daun kelor yang sudah menjadi serbuk direndam sempurna selama 72 jam di dalam etanol 70%. Daun kelor sesekali diaduk selama 30 menit. Apabila warna masih hijau, dilakukan remaserasi. Kemudian didiamkan selama 24 jam dan selanjutnya disaring. Prosedur perendaman serbuk menggunakan etanol sampai dengan prosedur disaring dilakukan sebanyak 3 kali. Hasil filtrat yang sudah disaring diuapkan dengan menggunakan *vacuum rotary 43 evaporator*, pemanas *water bath* dengan suhu 70°C sehingga terbentuk ekstrak yang agak kental. Setelah proses tersebut, kandungan etanol di dalam ekstrak menjadi berkurang hingga kurang dari 1% sehingga tidak dapat merusak jantung. Ekstrak kemudian dituang ke dalam cawan porselin dan dipanaskan dengan menggunakan pemanas *water bath* suhu 70°C sambil terus diaduk sehingga mendapatkan ekstrak etanol daun kelor.

e. Penghitungan dosis ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam.)

Dosis ekstrak yang diberikan berdasarkan analisis beberapa penelitian diantaranya penelitian Jain dkk pada tahun 2010 pada tikus dengan makanan tinggi kolestrol, ekstrak metanolik daun

kelor dosis 150, 300, 600 mg/kgBB dapat menurunkan serum lipid. Sedangkan pada penelitian Rajanandh dkk pada tahun 2012 dosis 100 dan 200 mg/kgBB ekstrak daun kelor selama 28 hari dapat menurunkan total kolesterol, trigliserida dan berat badan tikus model diet atherogenik. Pada penelitian ini peneliti menggunakan dosis ekstrak etanolik daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam.) 200mg/kg/bb dan 400mg/kgbb selama 28 hari. Konversi dosis untuk tikus dengan berat badan 200 g yakni:

$$\text{Dosis 1} = \frac{\text{BB tikus}}{200} \times 40 \text{ mg}$$

$$\text{Dosis 2} = \frac{\text{BB tikus}}{200} \times 80 \text{ mg}$$

Masing-masing dosis ekstrak dilarutkan dalam 2 cc akuades.

## 2. Tahap Perlakuan

### a. Adaptasi hewan coba

Tikus putih diadaptasikan selama 1 minggu.

### b. Pengelompokan

Setelah tikus putih diadaptasikan selama 1 minggu, tikus dibagi menjadi 4 kelompok secara acak yaitu :

KK (Kelompok Kontrol) : Diberi akuades 4 cc/200 gBB.

K(-)

(Kelompok Kontrol Negatif) : Diberi pakan tinggi lemak dan tidak diberi ekstrak daun kelor.

K1 (Kelompok perlakuan 1) : Diberi pakan tinggi lemak dan diberi ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis

40mg/200gBB selama 4 minggu.

K2 (Kelompok perlakuan 2) : Diberi pakan tinggi lemak dan diberi dosis ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis

80mg/200gBB selama 4 minggu.

c. Pembuatan model hiperkolesterolemia.

Model hiperkolesterol dibuat dengan cara memberi makan tikus diberi pakan standar dan pakan tinggi lemak yang terdiri dari kuning telur bebek 2cc/200gBB, minyak teroksidasi 1 cc/200gBB, *beef tallow* 2cc/200gBB dan diberikan dengan sonde lambung selama 1,5 bulan (6 minggu). Pada uji pendahuluan model hiperkolesterol berhasil dibuat. Kadar kolestrol diperiksa sebelum dan sesudah. Dan ternyata kolesterol total rata-rata naik secara signifikan pada pemeriksaan kadar kolesterol setelah pembuatan model. Rerata kolesterol pada kelompok yang diberi diet tinggi lemak naik dari 86,91 mg/dL menjadi 214,40 mg/dL.

d. Pemberian Perlakuan.

Setelah diadaptasi dan diberi uji pendahuluan, tikus dibagi menjadi 4 kelompok yaitu KK, K(-), K1, K2 diberi perlakuan.

KK: Tidak diberi pakan tinggi lemak dan tidak diberi ekstrak daun kelor

K(-): Diberi pakan tinggi lemak dan tidak diberi ekstrak daun kelor.

K1 : Diberi pakan tinggi lemak dan diberi ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis 40mg/200gBB selama 4 minggu.

K2: Diberi pakan tinggi lemak dan diberi dosis ekstrak etanolik daun kelor dengan dosis 80mg/200gBB selama 4 minggu.

Setelah 28 hari, KK, K(-), K1, K2 dicek kadar kolesterolnya. Masing-masing tikus dan tiap kelompok diberi label nama agar memudahkan dalam mengidentifikasi tiap perlakuan.

e. Tahap terminasi hewan coba.

Satu hari setelah pemberian ekstrak terakhir, tikus diterminasi secara inhalasi dengan eter. Jantung kemudian diambil dari hewan coba.

3. Tahap pembuatan dan pembacaan preparat.

a. Pengambilan Organ Jantung

Jantung diambil dari hewan coba yang sudah diterminasi dengan menggunakan scalpel dan gunting.

b. Fiksasi

Fiksasi dilakukan dengan cara merendam jantung dalam larutan formalin buffer 10%.

c. *Trimming*

Jantung kemudian dipotong secara membujur menggunakan scalpel.

d. Dehidrasi

a) Alkohol 50%-70% (12 jam )

b) Alkohol 95% (1 jam)

c) Alkohol Absolut (1 jam)

d) Alkohol Absolut (1 jam)

e) Alkohol Absolut (1 jam)

e. *Clearing*

a) Xylol 1 (30 menit)

b) Xylol 2 (1 jam)

c) Xylol 3 (1 jam)

f. Impregnasi / *Embedding*

Impregnasi dilakukan dengan merendam spesimen dalam parafin selama 12 jam pada inkubator suhu 59 ° C

g. *Blocking*

Selanjutnya dilakukan proses pembuatan blok parafin. Dalam pembuatan parafin sangat penting untuk diperhatikan orientasi



jaringan dengan benar sehingga akan diperoleh potongan dengan arah membujur / longitudinal.

h. Pengirisan

Pemotongan preparat jantung dilakukan sebanyak 3 irisan. Tebal tiap irisan 4-5  $\mu\text{m}$ , dengan jarak irisan satu dengan lainnya 20-25 irisan dengan harapan dapat menyeragamkan sampel preparat dan mewakili kelainan yang ada dalam jantung. Kemudian 3 irisan ditempelkan pada *object glass* yang telah diberi identitas sampel.

i. Pengecatan HE

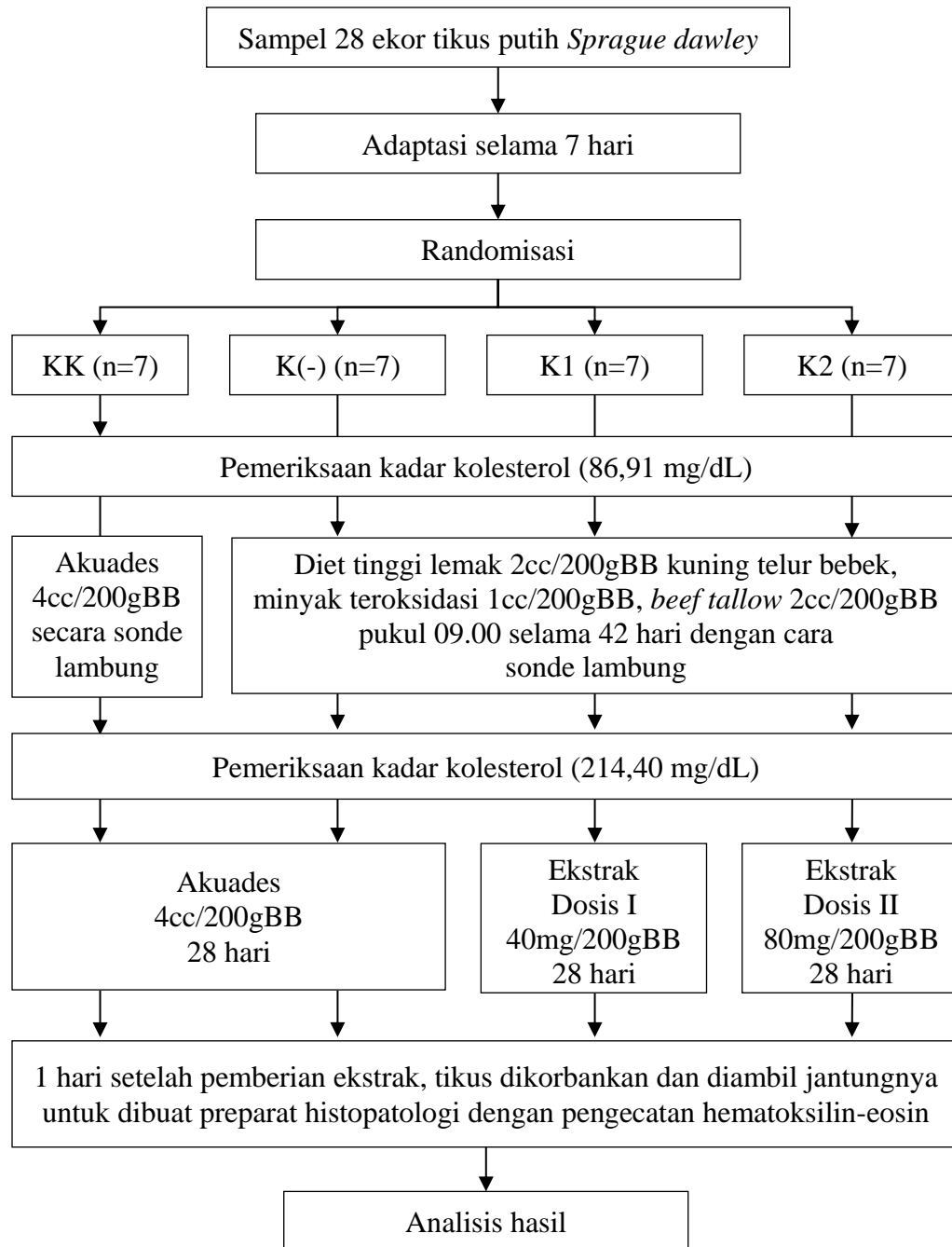
Kemudian deparafinisasi 4 x 5' dengan xylol. Cuci dengan alkohol 4 x 5' dengan kadar berurutan dari tinggi ke rendah (95 %, 80%, 70%, 50%). Cuci dengan air mengalir selama 5 menit, lalu masukan kedalam hematosilin mayer 10 menit, cuci air mengalir 2 menit, masukan ke dalam eosin 30 detik, cuci air mengalir 2 menit, celupkan dua kali pada alkohol 50% , lalu keringkan (udarakan). Tahap terakhir mounting dengan xylol kemudian tutup dengan *cover glass* .

j. Pembacaan preparat

Tiap preparat dibaca dengan mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000x menggunakan minyak imersi. Preparat dibaca dengan melihat ke bagian ventrikel kanan dan kiri. Setiap irisan

diperiksa di 6 lapang pandang yang terdiri dari 3 lapang pandang di ventrikel kanan dan 3 lapang pandang di ventrikel kiri. Dan dari tiap lapang pandang dilihat luas area sel lemak yang terdapat di antara sel otot jantung menggunakan software image raster 3.

## J. Alur Penelitian



**Gambar 3.2** Skema Alur Kerja Penelitian

## K. Analisis Data

Untuk mengetahui efek ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam.) terhadap gambaran histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) digunakan uji One Way Analysis of Variant (ANOVA). Syarat yang harus dipenuhi untuk menggunakan uji One-Way ANOVA yaitu: jenis skala pengukuran numerik, sebaran data harus normal. Bila ada perbedaan yang bermakna maka dilakukan uji posthoc *multiple comparison* dengan Uji LSD (*Least Significant Differences*). Jika persebaran data tidak normal, maka data dianalisis menggunakan Kruskal Wallis dan uji Posthoc Mann-Whitney. Derajat kemaknaan yang digunakan  $\alpha=0,05$

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN

#### J. Data Hasil Penelitian

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan mengenai pengaruh ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam.) terhadap gambaran histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia, hasil pengamatan histopatologi jantung berupa data luas area lemak pada masing-masing kelompok dapat dilihat pada tabel 4.1.

**Tabel 4.1.** Tabel rerata luas area lemak jantung pada setiap kelompok.

Kelompok	Luas area lemak ( $\mu\text{m}$ )
KK	378,81 $\pm$ 53,32
K(-)	1280,15 $\pm$ 133,94
K1	386,74 $\pm$ 57,87
K2	326,1 $\pm$ 29,89

Sumber : Data Primer (2017).

Tabel 4.1 menunjukkan bahwa area lemak jantung paling luas terdapat di kelompok kontrol negatif K(-) yaitu 1280,15 $\pm$ 133,94  $\mu\text{m}$ . Kelompok kontrol negatif tersebut mendapat perlakuan diet tinggi kolesterol tanpa diberi terapi ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam.). Kelompok dengan luas area lemak jantung paling rendah terdapat pada kelompok perlakuan 2 (K2) sebesar 326,1 $\pm$ 29,89  $\mu\text{m}$ . Kelompok tersebut mendapat perlakuan diet tinggi kolesterol

dan diberi terapi ekstrak daun kelor dosis 2 yaitu 80mg/200gBB.

## B. Analisis Data

### 1. Uji Normalitas Data

Uji normalitas data digunakan untuk mengetahui suatu sampel berasal dari populasi yang berdistribusi normal atau tidak. Alat analisis berupa Uji *Kolmogorov-Smirnov* karena jumlah data tiap kelompok lebih dari 50 ( $n > 50$ ).

Berdasarkan hasil uji didapatkan data sebagai berikut:

**Tabel 4.2.** Uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov*

	Kelompok	<i>Kolmogorov-Smirnov</i>		
		Statistic	df	Sig.
Area Lemak	KK	0,057	126	0,200
	K(-)	0,082	126	0,037
	K1	0,155	126	0,000
	K2	0,109	126	0,001

Sumber: Data Primer, 2017

Berdasarkan tabel 4.2 didapatkan bahwa data hasil pengukuran luas area lemak yang terdistribusi normal hanya pada kelompok KK dengan nilai Sig. 0,200 (Sig. $>0,05$ ), sedangkan pada kelompok lainnya distribusi datanya tidak normal (Sig. $<0,05$ ).

### 2. Uji Homogenitas Varians Data

Karena terdapat data yang distribusinya tidak normal, maka tidak dilakukan tes homogenitas varians.

### 3. Uji Beda *Mean*

Uji beda mean yang semula direncanakan menggunakan uji *One Way Analysis of Variant* (ANOVA) tidak jadi dilakukan, karena terdapat data yang distribusinya tidak normal. Data selanjutnya dianalisis menggunakan uji *Kruskal Wallis*. Uji *Kruskal Wallis* merupakan uji non-parametrik yang dapat dilakukan apabila uji *One-Way* ANOVA tidak terpenuhi syaratnya.

Hasil uji *Kruskal Wallis* menunjukkan nilai signifikansi 0,000 (Sig.< 0,05) sehingga dapat dikatakan terdapat perbedaan yang signifikan antara keempat kelompok tikus. Data hasil uji *Kruskal Wallis* secara rinci dapat dilihat pada lampiran. Untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan yang signifikan dilakukan uji *Post Hoc* menggunakan *Mann Whitney*.

### 4. Uji *Post Hoc*

Uji *Post Hoc Mann Whitney* digunakan untuk menguji signifikansi perbedaan antar kelompok perlakuan. Hasil uji *Mann Whitney* dirangkum dalam Tabel 4.3.

**Tabel 4.3.** Hasil Uji *Mann Whitney* Rerata Luas Area Lemak Jantung Antar Kelompok

Kelompok	Nilai p	Interpretasi *
KK dan K(-)	0,000	Signifikan
KK dan K1	0,633	Tidak Signifikan
KK dan K2	0,000	Signifikan
K(-) dan K1	0,000	Signifikan
K(-) dan K2	0,000	Signifikan
K1 dan K2	0,000	Signifikan

Sumber: Data Primer, 2017

Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p < 0,05$ ) diantara semua kelompok tikus, kecuali antara kelompok KK dan K1. Antara kelompok KK dan K1 menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan dengan nilai  $p = 0,633$  ( $p > 0,05$ ).



## BAB V

### PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan 4 kelompok tikus dengan perlakuan berbeda. Perlakuan dilakukan selama 42 hari dengan pemberian diet hiperkolesterolemia dan 28 hari kemudian masa pemberian ekstrak daun kelor. Tidak ada tikus yang mati atau *drop-out* selama perlakuan. Setelah perlakuan pada tikus selesai dilakukan, maka tikus dikorbankan dan diambil organ jantungnya untuk dibuat preparat dengan pengecatan HE. Pada preparat dilakukan pengamatan dengan mikroskop cahaya terhadap luas area lemak jantung. Pengamatan ini dilakukan sebagai ukuran hasil yang dapat dibandingkan antar kelompok perlakuan.

Terdapat perbedaan nilai rerata luas area lemak sekurang-kurangnya antara dua kelompok perlakuan pada uji *Kruskal-Wallis*. Untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan nilai antar kelompok yang dibandingkan, digunakan uji *Post Hoc Mann-Whitney*. Terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok KK dengan K(-), KK dengan K2, K(-) dengan K1, K(-) dengan K2, dan K1 dengan K2 pada uji *Mann-Whitney*. Sedangkan antara kelompok KK dengan K1 terdapat perbedaan yang tidak signifikan ( $p > 0,05$ ).

Kelompok kontrol normal (KK) merupakan kelompok yang menjadi acuan normal karena kelompok ini hanya diberikan pakan standar, tanpa diberikan diet tinggi kolesterol atau ekstrak daun kelor. Pada hasil pengamatan preparat jantung tikus kelompok KK, didapatkan rerata luas area lemak  $378,81 \pm 53,32 \mu\text{m}$ . Hasil pengamatan

menunjukkan area lemak pada KK sedikit lebih kecil dibandingkan kelompok perlakuan 1 (K1) dengan rerata luas lemak K1  $386,74 \pm 57,87 \mu\text{m}$ . Sedangkan area lemak pada KK lebih luas dibandingkan kelompok perlakuan 2 (K2) ( $320,83 \pm 29,89 \mu\text{m}$ ). Rerata luas area lemak yang paling besar terlihat di kelompok kontrol negatif (K(-)) dengan rerata luas area lemak  $1280,15 \pm 133,94 \mu\text{m}$ .

Berdasarkan uji *Post Hoc Mann Whitney*, kelompok KK dengan K(-) memiliki perbedaan yang signifikan ( $p=0,000$ ). K(-) merupakan kelompok yang mendapatkan diet tinggi kolesterol selama 42 hari tanpa diberikan ekstrak daun kelor. Kelompok ini memiliki rerata luas area lemak  $1280,15 \pm 133,94 \mu\text{m}$  yang diperoleh dari pengamatan histopatologi. Hal ini membuktikan bahwa pemberian diet tinggi kolesterol dapat meningkatkan luas area lemak pada otot jantung. Luas area lemak jantung dihitung dengan menghitung luas area lemak pada ventrikel kanan dan ventrikel kiri jantung. Hasil pengamatan ini mendukung penelitian Li (2016) yang menunjukkan bahwa diet tinggi kolesterol menyebabkan perlemakan jantung / *myocardial steatosis* yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini disebabkan karena akumulasi trigliserida pada otot jantung dan jaringan lemak jantung yang menyebabkan terbentuknya vakuola lemak antar otot jantung dan tetes-tetes lemak di dalam otot jantung (Cherian et al., 2012).

Perbedaan rerata luas area antara K(-) dengan K1, dan K(-) dengan K2 menunjukkan hasil yang signifikan ( $p=0,000$ ) pada uji *Post Hoc Mann Whitney*. Luas area lemak pada K(-) lebih besar dibandingkan K1 dan K2. Hal ini menunjukkan telah terjadi perbaikan pada luas area lemak pada jantung tikus putih setelah diberikan

ekstrak daun kelor, sehingga luas area K1 dan K2 lebih kecil dibandingkan K(-). Hal ini disebabkan karena pada daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam) terdapat zat aktif berupa  $\beta$ -sitosterol dan polifenol yang dapat memperbaiki perlemakan jantung.  $\beta$ -sitosterol dapat menurunkan level kolesterol dengan menghambat penyerapan kolesterol dalam usus halus sehingga dapat mengurangi kolestrol dan lemak bebas dalam serum. Dengan demikian dapat mengurangi trigliserida dan penambahan penimbunan lemak pada jantung. Polifenol mempunyai kemampuan yang secara alami dapat menguraikan radikal bebas, sehingga dapat menghambat proses rusaknya sel.  $\beta$ -sitosterol dan polifenol merupakan komponen penting dalam mengurangi jumlah perlemakan pada jantung (Cherian et al., 2012; Rajanandh et al., 2012).

Rerata luas area antara K1 dengan K2 menunjukkan perbedaan yang signifikan ( $p=0,000$ ) pada uji *Post Hoc Mann Whitney*. Luas area lemak K1 lebih besar dibandingkan K2 . Kondisi ini dapat terjadi karena  $\beta$ -sitosterol , polifenol dan flavonoid yang merupakan zat aktif pada ekstrak yang diberikan pada K2 lebih besar karena dosis ekstrak naik menjadi 80 mg/ 200 gBB, sehingga luas area lemak pada K2 lebih kecil dibandingkan K1. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak daun kelor diikuti dengan perbaikan luas area lemak jantung pada tikus putih (Rajanandh et al., 2012).

Hasil penelitian secara keseluruhan sejalan dengan Rajanandh *et al.* (2012) yang menunjukkan bahwa peningkatan dosis ekstrak daun kelor menghasilkan penurunan level kolesterol, yang menyebabkan turunnya area lemak pada jantung. ( $p<0,05$ ). Pada penelitian tersebut digunakan dosis 20 mg/200 gBB, dan 40 mg/200

gBB. Peningkatan dosis dari 40 mg/200 gBB ke 80 mg/200 gBB pada penelitian tersebut menyebabkan meningkatnya zat aktif berupa polifenol, flavonoid, dan  $\beta$ -sitosterol yang berperan pada proses perbaikan area lemak (Rajanandh et al., 2012). Dengan demikian pada penelitian Rajanandh *et al.* belum dapat mengungkapkan dosis ideal pemberian ekstrak daun kelor terhadap kondisi perlemakan di jantung.

Uji *Post Hoc Mann Whitney* menunjukkan bahwa rerata luas area antara KK dengan K1 perbedaannya tidak signifikan ( $p=0,633$ ). Hal ini menunjukkan telah terjadi perbaikan pada luas area lemak pada jantung tikus putih setelah diberikan ekstrak daun kelor dosis 1, sehingga luas area K1 hampir sama dengan KK.

Rerata luas area antara KK dengan K2 menunjukkan hasil yang signifikan ( $p=0,000$ ) pada uji *Post Hoc Mann Whitney*. Luas area lemak pada KK lebih besar dibandingkan K2. Hal ini menunjukkan telah terjadi perbaikan pada luas area lemak pada jantung tikus putih setelah diberikan ekstrak daun kelor dosis 2, sehingga luas area lemak K2 lebih kecil dibandingkan KK. Hal ini dapat terjadi karena dosis zat aktif pada ekstrak yang diberikan pada K2 cukup tinggi (dosis lebih tinggi dibanding K1) sehingga dapat mengurangi terjadinya timbunan lemak pada jantung lebih baik daripada KK. Selain itu juga dapat disebabkan oleh variabel luar yang tidak dapat dikendalikan yaitu keadaan jantung tikus yang tidak diperiksa sebelum dilakukan penelitian (*post test only control group design*). sehingga luas area lemak pada KK lebih besar dibandingkan K2. Kondisi jantung tikus sebelum penelitian merupakan salah satu variabel luar yang tidak dapat dikendalikan. Kondisi jantung awal masing-

masing tikus tidak dapat diperiksa sebelum perlakuan dilakukan sehingga peneliti tidak mengetahui apakah sudah terdapat kelainan pada jantung tikus.

Penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan dengan penelitian yang dilakukan oleh peneliti lainnya. Pertama, dibandingkan dengan penelitian Li (2016) menunjukkan adanya perbedaan komposisi diet tinggi lemak, sehingga dapat menimbulkan kondisi yang berbeda pada subyek penelitian. Kedua, penilaian kerusakan jantung pada penelitian ini hanya melalui pengukuran luas area lemak dengan pengecatan HE. Hal ini berbeda dengan penelitian Basso & Thiene (2004) yang menggunakan penghitungan area lemak dan luas fibrosis dengan pengecatan *trichome Heidenhain*.

Pada penelitian ini terdapat beberapa keterbatasan. Pertama, keterbatasan waktu penelitian yang menyebabkan durasi diet tinggi kolesterol pada penelitian ini masih belum menimbulkan akumulasi lemak antar sel otot jantung dan tetes lemak yang nyata (belum menyebabkan perlemakan yang parah). Kedua, hanya satu marker perlemakan jantung yang digunakan untuk menilai kerusakan jantung akibat perlemakan yaitu gambaran histopatologi jantung.

## **BAB VI**

### **SIMPULAN DAN SARAN**

#### **K. Simpulan**

Pemberian ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*, Lam.) dapat mengurangi *steatosis*/perlemakan pada gambaran histopatologi jantung tikus putih (*Rattus norvegicus*) model hiperkolesterolemia.

#### **A. Saran**

1. Dilakukan penelitian lanjutan dengan durasi diet hiperkolesterolemia yang lebih lama untuk memberikan gambaran tingkat perlemakan jantung yang lebih luas/lebih nyata.
2. Dilakukan penelitian lanjutan dengan dosis ekstrak daun kelor yang lebih bervariasi untuk mengetahui dosis optimalnya.
3. Dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan biomarker seperti troponin dan penggunaan pengecatan seperti masson trichrome untuk menilai perlemakan pada jantung, sehingga dapat diperoleh hasil yang lebih akurat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anon, 2016. WHO | Obesity and overweight. *WHO*.
- Basso, C. & Thiene, G., 2005. Adipositas cordis , fatty infiltration of the right ventricle , and arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy . Just a matter of fat ?. *Cardiovascular Pathology*, 14, pp.37–41.
- Budiarto, E., 2003. *Metodologi Penelitian Kedokteran : Sebuah Pengantar*, Jakarta: EGC.
- Buraimoh, A.A., Bako, I.G. & Ibrahim, F.B., 2011. Hepatoprotective Effect of Ethanolic Leave Extract of Moringa oleifera on the Histology of Paracetamol Induced Liver Damage in Wistar Rats. *International Journal of Animal and Veterinary Advances*, 3(1), pp.10–13.
- Cherian, S., Lopaschuk, G.D. & Carvalho, E., 2012. Cellular cross-talk between epicardial adipose tissue and myocardium in relation to the pathogenesis of cardiovascular disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 303(8), pp.E937-49.
- Dorland, W.. N., 2012. *Kamus Saku Kedokteran Dorland Edisi 28*, Jakarta: EGC.
- Duarte, M.M.M.F. et al., 2010. Oxidative stress in hypercholesterolemia and its association with Ala16Val superoxide dismutase gene polymorphism. *Clinical Biochemistry*, 43(13–14), pp.1118–1123.
- Fahey, J.W., 2005. Moringa oleifera: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties. Part 1. *Tree for Life Journal*, pp.1–24.
- Hall, J.E., 2011. *Guyton dan Hall : Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, Singapura: Elsevier Ltd.
- Ihedioha, J.I., Noel-uneke, O.A. & Ihedioha, T.E., 2013. Reference values for the serum lipid profile of albino rats ( *Rattus norvegicus* ) of varied ages and sexes. *Comparative Clinical Pathology*, 22(1), pp.93–99.
- Kemenkes RI, 2014. Infodatin : Situasi Kesehatan Jantung. *Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI*, pp.1–8. Available at: <http://www.depkes.go.id/download.php?file=download/pusdatin/infodatin/infodatin-jantung.pdf>.

- Li, S. et al., 2016. The high-fat diet induces myocardial fibrosis in the metabolically healthy obese minipigs and the role of ER stress and oxidative stress. *Clinical Nutrition*, (June), pp.1–8. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2016.06.002>.
- Mahmood, K.T., Mugal, T. & Haq, I.U., 2010. Moringa oleifera: A natural gift-a review. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(11), pp.775–781.
- Mescher, A.L., 2014. *Histologi Dasar Junqueira : Teks & Atlas* 12th ed. H. Hartanto, ed., Jakarta: EGC.
- Moyo, B. et al., 2012. Polyphenolic content and antioxidant properties of Moringa oleifera leaf extracts and enzymatic activity of liver from goats supplemented with Moringa oleifera leaves / sunflower seed cake. *MESC*, 91(4), pp.441–447. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.02.029>.
- Murray, R.K. et al., 2003. *Biokimia Harper*, Jakarta: EGC.
- Nelson, R.H., 2014. Hyperlipidemia as a Risk Factor for Cardiovascular Disease Robert. *Primary Care*, 40(1), pp.195–211.
- Patois, C., 2009. Moringa oleifera. *Agroforestry Database*, 0, pp.4–9.
- Rajanandh, M.G. et al., 2012. Moringa oleifera Lam. A herbal medicine for hyperlipidemia: A pre-clinical report. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2(SUPPL2), pp.S790–S795. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808\(12\)60266-7](http://dx.doi.org/10.1016/S2222-1808(12)60266-7).
- Sreelatha, S. & Padma, P.R., 2009. Antioxidant activity and total phenolic content of Moringa oleifera leaves in two stages of maturity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 64(4), pp.303–311.
- Swarjana, I.K., 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*, Yogyakarta: Andi.
- Tortora, G.J. & Derrickson, B., 2012. *Principles of Anatomy & Physiology* 13th ed., New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Tudies, S., Guzzardi, M.A. & Iozzo, P., 2011. REVIEW Fatty Heart, Cardiac Damage, and Inflammation. *The Review of Diabetic Studies*, pp.403–417.



USDA, 2016. Basic Report: 11222, Drumstick leaves, raw. Available at:  
<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2974>.

Vongsak, B., Sithisarn, P. & Gritsanapan, W., 2013. Bioactive contents and free radical scavenging activity of *Moringa oleifera* leaf extract under different storage conditions. *Industrial Crops & Products*, 49, pp.419–421. Available at:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.05.018>.